Product sheet

Клітини гепатиту-2 | 300397

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія HEp-2, яка спочатку вважалася похідною від клітин раку гортані, пізніше була ідентифікована за допомогою ДНК-дактилоскопії та наявності маркерних хромосом HeLa як контамінована з клітинами HeLa, клітинною лінією, яка була отримана від раку шийки матки. Незважаючи на це, клітинна лінія HEp-2 продовжує широко використовуватися в непрямій імунофлуоресценції для виявлення антинуклеарних антитіл (ANA), які є ключовими в діагностиці таких захворювань, як системний червоний вовчак і системний склероз. Аналіз непрямої імунофлуоресценції (IIFA) з використанням клітин HEp-2, який дає чіткі позитивні або негативні результати, є стандартним методом тестування антинуклеарних антитіл. Цей простий підхід має вирішальне значення для діагностики та класифікації різних системних аутоімунних захворювань. Патерни аутоантитіл, що спостерігаються в непрямій імунофлуоресценції на клітинах HEp-2, особливо в контексті ревматології, дають неоціненну інформацію про різні ревматичні захворювання. Крім того, всебічний огляд антигенів, що експресуються клітинами HEp-2 людини за різних умов культивування, дозволяє ідентифікувати специфічні АНА, пов'язані з такими захворюваннями, як вовчак. На закінчення, хоча контамінація клітинних ліній, таких як HEp-2, клітинами HeLa викликає занепокоєння в дослідженнях раку щодо точності і надійності результатів та їх клінічної значущості, корисність Hep-2 для виявлення антинуклеарних антитіл і його застосування в різних дослідницьких дисциплінах підкреслюють його незмінну важливість. Клітинна лінія HEp-2 слугує важливим інструментом у діагностиці та класифікації аутоімунних захворювань, серед інших застосувань.
Organism	Людина
Tissue	Гортань
Disease	Аденокарцинома
Applications	У ревматології непряма імунофлуоресценція з використанням клітин HEp-2 відіграє вирішальну роль у діагностиці аутоімунних захворювань, зокрема системного червоного вовчака та системного склерозу
Synonyms	Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2/HeLa, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, Гепатит-2, H.Ep. #2, H.Ep. №2, Hep II, Епідермоїдна карцинома людини №2, Епітеліома людини-2

Характеристики

Age	30 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Афроамериканець

Клітини гепатиту-2 | 300397

Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation	HEp-2 (номер за каталогом Cytion 300397)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1906

Біомолекулярні дані

Isoenzymes	G6PD, A
Reverse transcriptase	Негативно
Products	Кератин

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Клітини гепатиту-2 | 300397

Seeding density	1 x 10^4 клітин/$см^2$
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/$см^2$ і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини гепатиту-2 | 300397

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Hi
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.